

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2023.03.012

新疆外来入侵杂草豚草属 LAMP 快速检测技术的建立

于海鑫¹, 付开赞², 丁新华², 贾尊尊², 吐尔逊·阿合买提², 王 兰^{1*}, 郭文超^{2*}

¹塔里木大学农学院, 新疆 阿拉尔 843300; ²新疆农业科学院植物保护研究所/农业农村部
西北荒漠绿洲作物有害生物综合治理重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830091

摘要:【目的】开发外来入侵生物三裂叶豚草和豚草不同生育期、不同部位的环介导等温扩增(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)技术,以达到田间快速、准确和高效识别的目的。【方法】以 SYBR Green I 为指示剂,分别针对三裂叶豚草和豚草不同发育阶段(幼苗期、生长期、种子期)开展 LAMP 技术开发。【结果】特异性验证结果显示,所检测杂草的 LAMP 产物均呈阳性(产生白色沉淀),而与其对照的其他 2 种杂草的 LAMP 产物均为阴性(无白色沉淀)。灵敏度检测结果显示,该体系的 DNA 最低检测限为 10⁻¹⁰ ng · μL⁻¹,比常规聚合酶链式反应灵敏度高。【结论】本研究建立的 LAMP 检测体系能有效应用于三裂叶豚草和豚草样本的快速检测,为其快速、高效识别提供技术支撑。

关键词: 三裂叶豚草; 豚草; 环介导等温扩增(LAMP); 快速检测技术



开放科学标识码
(OSID 码)

Establishment of loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of the exotic invasive weed *Ambrosia* L. in Xinjiang

YU Haixin¹, FU Kaiyun², DING Xinhua², JIA Zunzun², TURERXUN · Ahemaiti²,
WANG Lan^{1*}, GUO Wenchao^{2*}

¹College of Agronomy, Tarim University, Alar, Xinjiang 843300, China; ²Key Laboratory of Integrated Management of Harmful Crop Vermin of China Northwestern Oasis, Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the P.R.C./Institute of Plant Protection, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi, Xinjiang 830091, China

Abstract: 【Aim】This study aimed to develop a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) technique for rapid, accurate, and efficient identification of the invasive alien species ragweed (*Ambrosia trifida* L.) and giant ragweed (*A. artemisiifolia* L.) at different growth stages using various plant parts. 【Method】SYBR Green I was used as an indicator to develop the LAMP method for identifying exotic invasive weed at difficult-to-distinguish periods, such as seeds, seedling, and growth stages. 【Result】Specific validation results showed that all LAMP products were positive (white precipitation) in the ragweed and giant ragweed testing groups, whereas all LAMP products pertaining to the other tested weeds were negative (transparent). Sensitivity test results revealed that the minimum DNA detection threshold in the system was 10⁻¹⁰ ng · μL⁻¹, which was more sensitive than that revealed by conventional polymerase chain reaction (PCR) techniques. 【Conclusion】Thus, the LAMP detection system established in this study can provide effective technical support for the rapid detection of ragweed and giant ragweed samples.

Key words: *Ambrosia trifida*; *Ambrosia artemisiifolia*; loop-mediated isothermal amplification (LAMP); rapid detection technique

豚草属 *Ambrosia* L.系菊科向日葵族,起源于美国西南部和墨西哥北部的索诺兰沙漠地区(曾珂等, 2010),共有 41 个种,其中入侵至中国的菊科豚草属植物为三裂叶豚草 *Ambrosia trifida* L.和豚草 *Ambrosia artemisiifolia* L.,这 2 种杂草是入侵性恶性杂草,也是世界上公认的有害植物,素有“植物杀手”之称(万方浩等,2005)。20 世纪 50 年代传入我国(李素德等,1990),随后沿交通线四处蔓延,目前在黑龙江、辽宁、北京等多地均有发现(梁巧玲和路平, 2014)。2010 年,在新疆伊犁河谷首次发现豚草和三

收稿日期(Received): 2022-08-09 接受日期(Accepted): 2022-11-19
基金项目: 新疆外来入侵生物监测检测数据共享平台(PT2028); 新疆农业科学院科技创新重点培育专项(xjkcpy-002); 新疆农业科学院科技创新重点培育专项(2022-2024)
作者简介: 于海鑫,女,硕士研究生。研究方向: 资源利用与植物保护。E-mail: 1145613592@qq.com
* 通信作者(Author for correspondence), 王兰, E-mail: wang-lan95@163.com; 郭文超, E-mail: gwc1966@163.com

裂叶豚草,至 2013 年,两者其在当地的分布面积分别达到 10 和 15 hm^2 (董合干和宋占丽,2017)。

三裂叶豚草和豚草因繁殖力强、扩散速度快、竞争力强,在生长过程中极易排斥其他植物,形成优势群落,给新疆农牧业的健康发展造成严重危害。它们入侵草原,引起草原退化,造成草地服务能力下降 (梁巧玲和路平,2014);花粉对人类健康也有危害 (王蕊等,2012; 谢俊芳等,2011),严重者可致人过敏甚至死亡 (马丽娟等,2020)。三裂叶豚草形态多变,除正常的 3~5 掌状深裂叶类型外,还有叶不裂型、深齿型和全裂叶型 3 种变型,从而造成识别困难 (关广清,1990)。豚草在开花前常与大籽蒿 *Artemisia sieversiana* Ehrhart ex Willd.、野艾蒿 *Artemisia lavandulifolia* DC.、小花鬼针草 *Bidens parviflora* Willd. 等相混淆 (关广清,1985)。三裂叶豚草和豚草在种子期、幼苗期形态特征极为相似,难以辨识,故建立快速检测技术对三裂叶豚草和豚草的准确识别至关重要。

Notomi *et al.* (2000) 研发了一种新型的核酸扩增方法—环介导等温扩增 (loop-mediated isothermal amplification, LAMP) 技术,该技术针对目的片段设计 4 条引物 (1 对外引物: F3 和 B3, 1 对内引物: FIP 和 BIP), 在链置换 DNA 聚合酶作用下,将目的片段在等温条件下进行扩增,其产物是众多大小不一的 DNA 片段的混合物。Nagamine *et al.* (2002) 开发出额外的一对引物,称之为环引物 (LF 和 LB), 能够提高 LAMP 反应的效率。与常规的聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 检测相比,该技术具有操作简便、特异性高、灵敏度高、结果易于观察判断等优势,也因此备受关注 (董文敏等, 2020)。在植物病原物与入侵害虫检测中,已有很多应用该技术的报道,如麦根腐平脐蠕孢 *Bipolaris sorokiniana* Shoem (崔林开等,2022)、苹果轮纹病菌 *Botryosphaeria dothidea* (Moug) (汪少丽等,2020)、油菜黑腥病菌 *Leptosphaeria biglobosa* (杜然,2019)、茶黄硬蓟马 *Scirtothrips dorsalis* Hood (黄丽莉等, 2021)、瓜实蝇 *Bactrocera cucurbitae* Coquillett (钟勇等,2019)、根结线虫 *Meloidogyne* spp. (吴文涛等, 2019) 等,但目前有关该技术在植物检测上的研究报道还较少。

鉴于此,本研究拟利用三裂叶豚草和豚草特异性序列设计一套 LAMP 引物,并对反应条件和反应体系进行优化,以建立三裂叶豚草和豚草的快速检

测技术,以期实现田间快速精准识别三裂叶豚草和豚草并阻止其扩散。

1 材料与方法

1.1 供试材料

主要实验材料:三裂叶豚草采自新疆维吾尔自治区哈萨克自治州新源县铁热克阿吾孜村 (83°37'50.40"E, 43°52'15.40"N, 海拔 817.9 m), 豚草采自新疆维吾尔自治区哈萨克自治州新源县 109 乡道 (83°21'77.91"E, 43°43'67.70"N, 海拔 874.7 m)。对照材料艾草 *Artemisia argyi* H. 采自新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市新疆农业科学院综合试验场 (87°48'31.73"E, 43°95'78.83"N, 海拔 874.7 m)。

主要实验试剂:DNA 裂解液购自宝日医生物技术 (北京) 有限公司, Bst II DNA polymerase 8 U · μL^{-1} Glycerol-free、10 × Bst Buffer (含 8 mmol · L^{-1} MgSO_4)、dNTP Mix (10 mmol · L^{-1} each) 和核酸染料 SYBR Green I 均购自上海翊圣生物科技有限公司等。

1.2 基因组 DNA 的提取

使用 TaKaRa 的 DNAiso Reagent 提取试剂,实验步骤参考试剂说明 (<https://www.takarabiomed.com.cn/>)。

1.3 LAMP 引物设计与合成

在 Bold Systems v4 网站 (http://www.boldsystems.org/index.php/Public_SearchTerms) 上获得三裂叶豚草和豚草的基因序列。其中,三裂叶豚草 GenBank: rbcLa: 491; 豚草 GenBank: MH517698。选用 NEBLAMP ([https://lamp.neb.com/#/](https://lamp.neb.com/#!/)) 在线设计引物,设计 3 套引物同时选取其中 1 套进行引物合成,引物信息见表 1。序列在金斯瑞生物科技有限公司进行合成。

1.4 LAMP 反应体系

LAMP 反应体系: 2.5 μL 10 × Bst Buffer (含 8 mmol · L^{-1} MgSO_4)、3.5 μL dNTP Mix (10 mmol · L^{-1} each)、1 μL Bst II DNA polymerase、8 U · μL^{-1} Glycerol-free、2.5 μL 10 × Primers (10 μmol · L^{-1} GF-FIP 和 GF-BIP 各 4 μL , 2 μmol · L^{-1} GF-F3 和 GF-B3 各 0.5 μL , 4 μmol · L^{-1} Loop F/B each 各 1 μL , ddH₂O 14 μL) 和 1 μL 模板 DNA, 最后加入灭菌超纯水至 25 μL 。上述试剂混均匀后,放置于恒温 55~65 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中反应 60 min, 80 $^{\circ}\text{C}$ 灭活 5 min, 筛选出最佳反应时间。

表 1 用于 LAMP 检测的引物信息
Table 1 Primer information used for LAMP detection

物种 Species	引物组 Primer group	引物名称 Primer name	引物序列 (5'-3') Sequence of primer (5'-3')
三裂叶豚草 <i>A. trifida</i>	Atr-1	F3	ACTAACATGTTTACTTCCATTGT
		B3	CCAATTTAGGTTTAATAGTACATCC
		FIP	CGGGATTGCGAAATCTTCCAGAGGTAATGTATTGCGGTTCAAAG
		BIP	GCGTATGTTAAAACTTTTCGACGGTCAACAGGGGACGACCATA
		LF	ACGTAGAGCACGCAGGG
		LB	CCGCCTCACGGTATCCA
豚草 <i>A. artemisiifolia</i>	Aar-1	F3	AAGGATACTGATATCTTGGCA
		B3	TGGGTAAGCTACATAAGCAATA
		FIP	TAGAAGATTGCGCAGCTACTGCTTCGACTAACTCCTCAACC
		BIP	TACATGGACAACGTATGGACCGCAGGAACAGGCTCAAGTC
		LF	TTCTTCAGGCGGAATCCA
		LB	CCTTGATCGTTACAAAGGCC

1.5 LAMP 特异性检测

针对三裂叶豚草和豚草的不同发育阶段(幼苗期、生长期、种子期),通过提取基因组 DNA,进行扩增反应。使用焦磷酸酶沉淀-比浊法,开展 LAMP 检测技术的开发。以清水和艾草为对照,如产生沉淀则为阳性,如未产生沉淀则为阴性(林瑶等,2014)。

1.6 LAMP 灵敏度检测

选用特异性检测结果最稳定的叶片作为灵敏度检测对象。提取浓度为 $127.5\text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$,然后用无菌水进行 10 倍梯度稀释,使其终浓度分别为 100 、 10 、 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} 、 10^{-9} 、 10^{-10} 、 $10^{-11}\text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$,最终使用不同浓度作为模板进行 LAMP 反应,以 ddH₂O 为空白对照。反应结束后加入 $1\text{ }\mu\text{L}$ 核酸染料 SYBR Green I,若其结果为阳性,则为明显的绿色荧光,而阴性结果则为橙色,并以此检测 LAMP 技术的灵敏度。

2 结果与分析

2.1 LAMP 反应体系的建立

LAMP 引物最佳反应温度为 $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。用于检测三裂叶豚草和豚草的 LAMP 最佳反应体系: $2.5\text{ }\mu\text{L}$ $10\times$ Bst Buffer(含 $8\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}\text{MgSO}_4$), $3.5\text{ }\mu\text{L}$ dNTP Mix ($10\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ each), $1\text{ }\mu\text{L}$ BstⅡDNA polymerase, $8\text{ U} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ Glycerol-free, $2.5\text{ }\mu\text{L}$ $10\times$ Primers ($16\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ GF-FIP 和 GF-BIP 各 $4\text{ }\mu\text{L}$, $2\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ GF-F3 和 GF-B3 各 $0.5\text{ }\mu\text{L}$, $4\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Loop F/B each 各 $1\text{ }\mu\text{L}$, ddH₂O $14\text{ }\mu\text{L}$)和 $1\text{ }\mu\text{L}$ 模板 DNA,最后灭菌超纯水补足 $25\text{ }\mu\text{L}$ 。反应程序:在 $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴锅中温育 1 h , $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 5 min ,使 Bst DNA 聚合酶

失活。最后加入核酸染料 SYBR Green I,结果出现明显的绿色荧光为阳性,出现橙色则为阴性。

2.2 三裂叶豚草和豚草 LAMP 特异性检测

使用本研究设计的三裂叶豚草 LAMP 引物 Atr-1 (GF-FIP、GF-BIP、GF-F3、GF-B3、GF-LB、GF-LF),以豚草和艾草对照,对三裂叶豚草幼苗期、生长期、种子期进行 LAMP 扩增,结果(图 1)显示,只有三裂叶豚草产生白色沉淀,有阳性反应,豚草和艾草对照均无产生白色沉淀,为阴性反应。

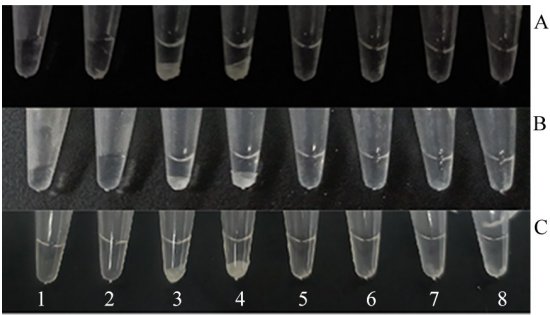


图 1 三裂叶豚草 LAMP 特异性检测
Fig.1 LAMP specificity detection of *A. trifida*

A: 种子期; B: 幼苗期; C: 生长期; 1~2: ddH₂O; 3~4: 三裂叶豚草; 5~6: 豚草; 7~8: 艾草。
A: Seed stage; B: Seedling stage; C: Growing period; 1-2: ddH₂O; 3-4: *A. trifida*; 5-6: *A. artemisiifolia*; 7-8: *Artemisia argyi*.

使用本研究设计的豚草 LAMP 引物 Aar-1 (GF-FIP、GF-BIP、GF-F3、GF-B3、GF-LB、GF-LF),以三裂叶豚草和艾草为对照,对豚草幼苗期、生长期、种子期进行 LAMP 扩增,结果(图 2)显示,只有豚草产生白色沉淀,有阳性反应,三裂叶豚草、艾草对照均无产生白色沉淀,为阴性反应。以上结果说明,该 LAMP 引物具有较强的特异性。

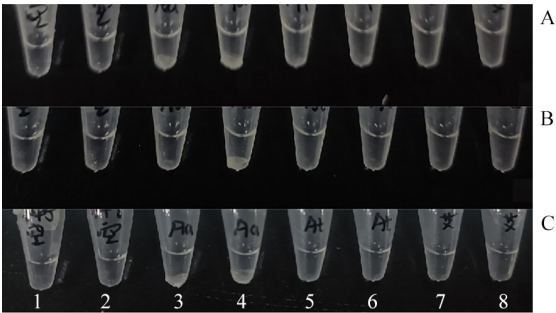


图 2 豚草 LAMP 特异性检测

Fig.2 LAMP specificity detection of *A. artemisiifolia*

A: 种子期; B: 幼苗期; C: 生长期; 1~2: ddH₂O;
3~4: 豚草; 5~6: 三裂叶豚草; 7~8: 艾草。
A: Seed stage; B: Seedling stage; C: Growing period; 1~2: ddH₂O;
3~4: *A. artemisiifolia*; 5~6: *A. trifida*; 7~8: *Artemisia argyi*.

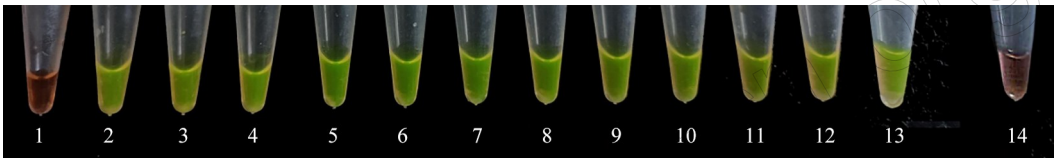


图 3 三裂叶豚草 LAMP 灵敏度检测

Fig.3 LAMP sensitivity detection of *A. trifoliata*

1: 空白对照; 2~14: 分别为 DNA 浓度 100、10、10⁻¹、10⁻²、10⁻³、10⁻⁴、10⁻⁵、10⁻⁶、10⁻⁷、10⁻⁸、10⁻⁹、10⁻¹⁰ 和 10⁻¹¹ ng · μL⁻¹。
1: Blank control; 2~14: DNA concentrations of 100, 10, 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸,
10⁻⁹, 10⁻¹⁰ and 10⁻¹¹ ng · μL⁻¹, respectively.

3 讨论与结论

LAMP 检测方法具有操作快速简便、特异性强、灵敏度高、检测成本低等优点,该技术已广泛运用于植保等领域。国外学者最初通过 LAMP 检测番茄花叶病毒病 (Shiro *et al.*, 2003); 彭军等(2013)建立的柑桔黄龙病 LAMP 技术可以检测到最低下限约为 1 pg · μL⁻¹ 质粒 DNA, 是 PCR 检测灵敏度的 100 倍; 王贤达等(2014)利用 LAMP 技术检测柑橘黄龙病病原菌, 检测灵敏度达 10⁻⁶ ng · μL⁻¹, 是普通 PCR 的 1000 倍, 为柑橘黄龙病早期诊断提供了快速检测的方法; 钟勇等(2019)建立的瓜实蝇快速可视化分子检测方法可检测到 1.65 ng · μL⁻¹ 的 DNA 模板, 能够将瓜实蝇与其近似种进行区分。

本研究通过三裂叶豚草和豚草的 DNA 序列区间设计了 3 组引物, 并从中筛选获得 1 组引物, 通过优化反应体系的温度以及时间, 建立了高效检测三裂叶豚草和豚草的 LAMP 技术体系。通过对前期优化后的反应体系与反应条件进行验证, 该 LAMP 体系仅对三裂叶豚草和豚草的特异性检测结果呈阳性, 且灵敏度结果中最低检测限为 10⁻¹⁰ ng · μL⁻¹, 优于常规 PCR 的检测结果; 此外,

2.3 三裂叶豚草 LAMP 灵敏度检测

因三裂叶豚草和豚草基因组 DNA 提取方法与灵敏度检测方法一样, 故本研究只进行三裂叶豚草实验验证。提取三裂叶豚草基因组 DNA, 紫外分光光度计测量提取的基因组 DNA 浓度为 127.5 ng · μL⁻¹, 将 DNA 浓度调整为 100 ng · μL⁻¹, 进行 10 倍梯度稀释为模板进行 LAMP 扩增, 验证 LAMP 体系的灵敏度。从 LAMP 反应结果(图 3) 可以看出, DNA 浓度为 10⁻¹⁰ ng · μL⁻¹ 以下的实验组反应液呈浅橘色, DNA 浓度为 10⁻¹⁰ ng · μL⁻¹ 及以下的实验组反应液颜色为荧光绿, 表明 LAMP 引物最低限度为 10⁻¹⁰ ng · μL⁻¹。

LAMP 快速检测技术在反应时间方面具有较大优势, 常规 PCR 对目标 DNA 片段的检测需要花费 2~4 h, LAMP 体系反应时间仅需 1 h, 且设备成本较低。但是本实验所使用的商品裂解液与 SYBR Green I 荧光染料成本较高, 对引物设计的要求比较高且 LAMP 产物不能进行后续实验(秦文韬等, 2013)。

尽管 LAMP 技术还存在一些缺点和不足, 但随着 LAMP 技术的日益完善和发展, 加上 LAMP 所需仪器设备价格极低、扩增快速高效、适合各种环境下的快速检测、实用性强等优点, LAMP 有望成为检测入侵性杂草的常用工具, 并将在入侵性杂草的分子检测和诊断中发挥更大的作用。后续应开展三裂叶豚草和豚草 DNA 快速提取方法的建立与优化研究, 并与本研究的 LAMP 检测体系相结合, 提高其检测能力, 从而实现检测体系的高效、便捷, 以达到从入侵种子源头控制的目的, 这不仅可以为识别鉴定外来入侵性杂草三裂叶豚草和豚草提供技术支撑, 还能在三裂叶豚草和豚草的绿色防控提供参考(胡章薇等 2021; 朱志伟和赵金红, 2020)。

参考文献

- 崔林开, 和志华, 康业斌, 胡艳红, 2022. 环介导等温扩增技术快速检测麦根腐平脐蠕孢. 植物病理学报, 52(2): 269-275.
- 董合干, 宋占丽, 2017. 伊犁河谷豚草和三裂叶豚草的入侵速度、危害及防治对策. 新疆农业科技, 22(5): 45-46.
- 董文敏, 贺春萍, 吴伟怀, 梁艳琼, 谢立, 李锐, 黄兴, 郑金龙, 习金根, 陆英, 易克贤, 2020. 橡胶树褐根病病菌 LAMP 快速检测方法的建立及应用. 农业生物技术学报, 28(6): 1114-1122.
- 杜然, 2019. 检测油菜黑胫病菌的 LAMP 技术建立与应用. 硕士学位论文. 武汉: 华中农业大学.
- 关广清, 1985. 豚草和三裂叶豚草的形态特征和变异类型. 沈阳农学院学报, 16(4): 9-17.
- 关广清, 1990. 三裂叶豚草及其三种变型. 植物检疫, 4(2): 139-143.
- 胡章薇, 杨帆, 张学飞, 刘耀霞, 闫佳会, 侯璐, 郭青云, 姚强, 2021. 青稞条纹病 LAMP 检测体系的建立. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 49(11): 105-114.
- 黄丽莉, 李茵, 刘英, 彭徽, 寇海群, 2021. 采用实时荧光环介导等温扩增检测方法鉴定茶黄硬蓟马. 植物保护学报, 48(4): 925-926.
- 李素德, 高东昌, 关广清, 1990. 豚草和三裂叶豚草的物候期. 植物检疫, 4(5): 335-341.
- 梁巧玲, 陆平, 2014. 新疆伊犁河谷发现外来杂草——三裂叶豚草和豚草. 杂草科学, 32(2): 38-40.
- 林瑶, 朱雅君, 叶军, 雷桥, 2014. 环介导恒温扩增技术及其在昆虫学领域的应用前景. 上海农业学报, 30(5): 137-141.
- 马丽娟, 高建诚, 王俊, 2020. 新疆农区豚草和三裂叶豚草综合防治技术. 新疆农业科技, 18(4): 41-43.
- 彭军, 廖孝文, 杨海中, 曾凡云, 龙海波, 裴月令, 郭建荣, 2013. 柑桔黄龙病环介导等温扩增检测方法建立及应用. 热带作物学报, 34(10): 1998-2003.
- 秦文韬, 王忠跃, 张昊, 2013. 环介导恒温扩增技术在植物病原物检测中的应用. 中国农业科技导报, 15(3): 169-174.
- 万方浩, 郑小波, 郭建英, 2005. 重要农林外来入侵物种的生物学与控制. 北京: 科学出版社.
- 汪少丽, 曲恒华, 王英姿, 王培松, 栾炳辉, 王冠华, 2020. 苹果轮纹病菌 LAMP 快速检测方法的建立. 植物保护学报, 47(1): 127-133.
- 王蕊, 孙备, 李建东, 王国骄, 孙佳楠, 王欣若, 钟日亭, 2012. 不同光强对入侵种三裂叶豚草表型可塑性的影响. 应用生态学报, 23(7): 1797-1802.
- 王贤达, 林雄杰, 胡菡青, 王宗华, 范国成, 2014. 柑橘黄龙病可视化 LAMP 检测技术的建立及应用. 热带作物学报, 35(5): 918-924.
- 吴文涛, 李梅云, 许姗姗, 薛美静, 张靖, 魏环宇, 王扬, 2019. 植物罹病组织中南方、爪哇、花生根结线虫的 LAMP 快速检测. 生物安全学报, 28(1): 59-64.
- 谢俊芳, 全国明, 章家恩, 毛丹鹃, 徐华勤, 秦钟, 2011. 豚草入侵对中小型土壤动物群落结构特征的影响. 生态学报, 31(19): 5682-5690.
- 曾珂, 朱玉琼, 刘家熙, 2010. 豚草属植物研究进展. 草业学报, 19(4): 212-219.
- 钟勇, 黄素萍, 李秉然, 马福欢, 梁琨, 蓝翊文, 何成伟, 2019. 瓜实蝇可视化 LAMP 快速分子检测方法. 植物检疫, 33(1): 35-38.
- 朱志伟, 赵金红, 2020. 环介导等温扩增技术在寄生虫检测中的应用进展. 热带病与寄生虫学, 18(4): 234-238.
- NAGAMINE K, HASE T, NOTOMI T, 2002. Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplification using loop primers. *Molecular and Cellular Probes*, 16(3): 223-229.
- NOTOMI T, OKAYAMA H, MASUBUCHI H, YONEKAWA T, WATANABE K, AMINO N, HASE T, 2000. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research*, 28(12): e63.
- SHIRO F, SHINRO K, KEIKO Y, YUKO M, AKIRO I, JUN-NICHI U, MICHIO K, YOSHIYUKI I, 2003. Detection of tomato yellow leaf curl virus by loop-mediated isothermal amplification reaction. *Journal of Virological Methods*, 112(1): 35-40.

(责任编辑:郑姗姗)